

ULASAN

Musa sebagai Model Genom

Musa as a Genomics Model

RTITA MEGIA^{1,2}

¹*Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Jalan Raya Pajajaran, Bogor 16144*

²*Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680*

Tel. +62-251-345011, Fax. +62-251-345011, E-mail: ritamegia@cbn.net.id

Diterima 22 Oktober 2004/Disetujui 9 November 2005

During the meeting in Arlington, USA in 2001, the scientists grouped in PROMUSA agreed with the launching of the Global *Musa* Genomics Consortium. The Consortium aims to apply genomics technologies to the improvement of this important crop. These genome projects put banana as the third model species after *Arabidopsis* and rice that will be analyzed and sequenced. Comparing to *Arabidopsis* and rice, banana genome provides a unique and powerful insight into structural and in functional genomics that could not be found in those two species. This paper discussed these subjects including the importance of banana as the fourth main food in the world, the evolution and biodiversity of this genetic resource and its parasite.

Pisang sebagai buah tropis yang berasal dari Asia Tenggara mempunyai peranan yang sangat penting dalam percaturan buah internasional. Menurut data *Food Agriculture Organization* (FAO) (2003), pisang selalu menduduki urutan pertama di dunia dari segi produksi maupun volume perdagangan buah segar. Produksi tahunan dunia rata-rata mencapai 98 juta ton. Dari segi area penanaman, pisang juga menempati area penanaman yang sangat luas meliputi hampir 10 juta hektar di 130 negara. Tanaman pisang mudah ditanam pada semua kondisi lingkungan, menghasilkan buah sepanjang tahun, sehingga merupakan sumber bahan makanan sepanjang tahun, diantara masa panen dan bahkan pada masa paceklik.

Lebih dari 85% produksi global dihasilkan dari kebun-kebun berskala kecil yang dipergunakan untuk konsumsi lokal dan pasar regional (*International Network for the Improvement of Banana and Plantain* 2002). Oleh sebab itu, pisang mempunyai peran penting dalam ketahanan pangan. Hal ini juga disebabkan karena buah pisang mudah dijumpai serta mempunyai harga yang relatif murah. Pisang yang memiliki kualitas prima (15% dari total produksi dunia) diperdagangkan dalam pasar ekspor yang bagi negara eksportir tersebut merupakan sumber devisa yang besar. Ekuador sebagai negara pengekspor pisang utama di dunia memperoleh tidak kurang dari 1 milyar US dolar tiap tahun (*Food Agriculture Organization* 2003).

Selain dikonsumsi sebagai buah meja, pisang (plantain) juga merupakan sumber makanan pokok bagi 100 juta penduduk di Afrika. Dengan demikian, pisang juga merupakan bahan pangan keempat (Frison *et al.* 2004) setelah padi,

gandum, dan jagung. Buah pisang mempunyai nilai gizi tinggi, tiap 100 g pisang memberikan 90 kalori, tidak mengandung kolesterol, kaya akan vitamin A, C, B6, mineral kalsium, kalium, dan fosfor. Satu buah pisang mengandung 380 mg kalium, jumlah yang lebih dari cukup untuk memenuhi kebutuhan harian orang dewasa (Simmonds 1966). Buah pisang mudah dicerna sehingga merupakan makanan padat pengganti pertama yang diberikan kepada bayi.

Mengingat berbagai keunggulan pisang di atas, tidak mengherankan jika pisang merupakan objek tanaman yang sangat penting dan menarik. Ledakan berbagai penyakit yang menurunkan produktivitas secara drastis telah memacu penelitian ke arah perolehan klon-klon resisten (Stover & Buddenhagen 1986). Program pemuliaan demikian memerlukan mobilisasi potensi genetika yang besar dan beragam untuk menyatukan semua sumber resistensi yang ada. Untuk itu, diperlukan evaluasi menyeluruh pada seluruh sumber plasma nutfah yang ada serta pengetahuan yang lebih mendalam tentang keanekaragaman dan evolusi spesies dan subspecies pada genus *Musa*. Selain determinasi karakter morfologi dan agronomi dalam era bioteknologi saat ini, penelitian pada tingkat molekular juga telah mulai dikerjakan (Faure *et al* 1993; Gonzales de Leon & Faure 1993; Kahl 2004; Khayat 2004; Pillay *et al.* 2004).

Tulisan di bawah ini menyajikan berbagai karakter genetika pisang yang menarik yang melandasi terpilihnya tanaman ini sebagai projek model genom ketiga setelah *Arabidopsis* dan padi, nilai sosio-ekonomis pisang sebagai bahan makanan pokok keempat di dunia, evolusi dan keragaman genetika tanaman ini, dan serta koevolusi antara inang-patogen pisang.

Keunikan dan Keragaman Genetika Pisang

Para ahli pemulia umumnya sepakat bahwa *Musa acuminata* Colla dan *Musa balbisiana* Colla merupakan nenek moyang pisang untuk konsumsi (Simmonds & Shepherd 1955). Kedua spesies ini bersifat diploid dengan genom yang disimbolkan berturut-turut dengan huruf AA dan BB. Dalam perjalanan evolusi, sifat liar yang dicirikan dengan fertilitas bunga yang tinggi dan mampu membentuk biji, lama kelamaan mengalami perubahan dan selanjutnya tanaman kehilangan sebagian bahkan seluruh sifat ini. Hal ini terjadi baik pada kepala sari maupun pada bakal biji, sehingga semua klon-klon pisang budidaya bersifat steril dan tidak berbiji.

Selain diploid, pisang-pisang yang dikonsumsi umumnya memiliki kromosom triploid, sedangkan hasil persilangan ada pula yang tetraploid. Ketersediaan berbagai level ploidi pada genom yang sama dalam plasma nutfah tanaman ini memberikan kesempatan untuk mengeksplorasi peran poliploidi pada fungsi-fungsi metabolik dasar dan produktivitas. Seperti diketahui pada kebanyakan tanaman budidaya kenaikan set kromosom dapat meningkatkan produktivitas. Hal yang sama juga terlihat pada pisang. Secara umum pisang triploid mempunyai penampakan batang dan buah yang lebih besar dibandingkan dengan pisang diploid. Contoh: pada pisang Ambon (AAA) memiliki tandan dan buah yang jauh lebih besar dibandingkan dengan pisang Mas (AA) (Simmonds 1966).

Poliploidi pada pisang ada yang bersifat autoploid (AAA), ada pula yang allopoloid (AAB dan ABB) (Simmonds & Shepherd 1955). Kekayaan poliploidi demikian ini sangat menarik dari segi genetika karena tidak selalu dijumpai pada semua tanaman budidaya. Bahkan pada kapas dan tebu yang banyak diteliti dari segi sitologi hal demikian tidak dijumpai (*International Network for the Improvement of Banana and Plantain* 2002). Dengan tersedianya materi ploidi yang beranekaragam, hubungan poliploidi terhadap fenotipe dapat diteliti lebih mendalam.

Konsekuensi poliploidi terhadap organisasi genom dapat dilihat dengan lebih jelas pada peristiwa hibridisasi. Persilangan *M. acuminata* dan *M. balbisiana* melahirkan hibrid AB, sedang triploid diduga terjadi akibat restitusi genom setelah penyerbukan serbuk sari pada bakal biji yang tidak membelah dengan sempurna set kromosomnya. Hal ini dapat terjadi pada *M. acuminata* saja atau jika melibatkan kedua spesies dapat menurunkan genom AAB atau ABB. Semua ini diduga terjadi ribuan tahun yang lalu di Malaysia (Simmonds & Shepherd 1955). Analisis interaksi tetua pada tingkat genom dan urutan DNA dapat lebih menjelaskan asal usul pisang saat ini.

Sesungguhnya kekayaan dalam genom A maupun genom B sangat beragam. Hal ini antara lain dapat terlihat baik dari segi ukuran kromosom (Chikmawati *et al.* 1998), kandungan flavonoids dan isozim (Horry 1989), pola isozim (Jarret & Litz 1986a, Jarret & Litz 1986b, Megia *et al.* 2001), kandungan DNA pada kloroplas (Gawel & Jarret 1991a), DNA sitoplasmik (Gawel & Jarret 1991b), hingga DNA mikrosatelit (Lagoda *et al.* 1997). Ditinjau dari segi morfologi dan sitologi dalam sp.

acuminata saja, ditemukan paling sedikit delapan subspecies (Simmonds & Shepherd 1955). Hal ini juga menjelaskan dalam genom yang sama tanaman pisang belum tentu mempunyai ekspresi fenotipe yang sama.

Hal lain yang sangat menarik pada sistem pewarisan genetika tanaman ini adalah pisang merupakan salah satu dari sedikit spesies dengan pewarisan sifat sitoplasmik biparental. DNA kloroplas diturunkan dari tetua betina sedang DNA mitokondria dari tetua jantan (Faure *et al.* 1994). Pengetahuan sistem pewarisan organela ini sangat penting dalam analisis filogenetik pisang, serta bermanfaat dalam menentukan asal hibrid dan dalam determinasi genetika berbagai karakter agronomi.

Asia termasuk Indonesia merupakan *center of origin* dan sekaligus *center of diversity* tanaman pisang (Simmonds 1966). Ratusan klon dapat dijumpai di daerah ini, dan banyak diantaranya mempunyai nilai ekonomis tinggi. Klon-klon ini secara genetika terfiksasi selama ribuan tahun dan bersifat tetap oleh cara perbanyakan vegetatif. Pada lingkungan yang sama juga dijumpai pisang-pisang kerabat liar diploid yang fertil atau semi steril (Horry 1989). Semua ini berevolusi bersama-sama pada habitat yang sama membentuk keanekaragaman yang tinggi (*International Network for the Improvement of Banana and Plantain* 2002). Hal ini menjadikan *Musa* sebagai model yang sempurna untuk dipelajari evolusi genomnya. Penelitian evolusi genom pisang merupakan landasan dalam mempelajari peran hibridisasi dan poliploidi tanaman budidaya pisang.

Kombinasi sifat partenokarpi dan sterilitas pada pisang yang dikonsumsi menyebabkan pemuliaan tanaman ini secara konvensional sulit dilakukan. Sebagai tanaman budidaya yang berkembang biak secara vegetatif, pisang merupakan model yang unik untuk dipelajari peran variasi somaklonal dan fenomena cetak biru tanaman ini. Pada pemakaian kultur jaringan, mutasi yang terjadi ratusan bahkan ribuan kali lebih cepat dibandingkan dengan mutasi alami di alam (Reuveni *et al.* 1996). Kenyataan yang terjadi menunjukkan pemakaian anakan hasil kultur jaringan saat ini merupakan hal yang sangat lazim dijumpai tidak hanya di perkebunan besar tetapi juga lokal.

Terakhir ditinjau dari segi analisis praktis dan kemudahan untuk dikerjakan, ukuran genom pisang relatif kecil. Dengan jumlah kromosom dasar $x = 11$ diperkirakan genom haploid pisang hanya sekitar 500-600 Mb (*International Network for the Improvement of Banana and Plantain* 2002), satu seperempat kali lebih besar dari genom padi. Ditinjau dari segi taksonomi menarik sekali untuk mempelajari sinteni di antara kedua spesies yang jauh hubungan kekeluargaannya ini walau keduanya termasuk monokotil. Ukuran genom yang kecil juga berpotensi memberikan gambaran fungsi dan struktur genomik yang lebih baik.

Koevolusi antara Inang-Patogen Pisang

Sebagaimana tanaman budidaya lain, pisang juga rentan terhadap berbagai hama dan penyakit, yang disebabkan oleh cendawan, bakteri maupun virus. Berbagai penyakit yang

berdampak besar dalam menurunkan produksi adalah: penyakit Panama yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*, penyakit sigatoka oleh cendawan *Mycosphaerella musicola* dan *Mycosphaerella fijiensis*, penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Pseudomonas* serta Bunchy Top yang diakibatkan oleh virus (Stover & Buddenhagen 1986).

Sejarah evolusi menunjukkan adanya keseimbangan tertentu antara inang-patogen pada mekanisme resistensi (Horry 1989). Di Asia, pada kondisi alami spesies pisang berkoevolusi dengan patogen-patogennya pada waktu yang bersamaan pada lingkungan yang sama. Koevolusi inang-patogen demikian ini menimbulkan harmoni sehingga sifat-sifat resistensi maupun gen tahan terhadap penyakit sering ditemukan pada keadaan seperti ini (*International Network for the Improvement of Banana and Plantain* 2002).

Analisis hubungan inang-parasit sangat penting dalam mendapatkan informasi adanya gen resisten terhadap parasit tertentu. Introduksi pisang olahan (*plantain*) di Afrika ribuan tahun lalu kini telah menimbulkan keragaman *Musa* yang tinggi di benua tersebut sehingga Afrika Timur juga dikenal sebagai *center of diversity* kedua tanaman pisang (Simmonds 1966). Semua ini terjadi akibat mutasi dan campur tangan manusia dalam seleksi. Berbagai patogen penting pisang di tempat asalnya tidak ditemukan di benua ini (*International Network for the Improvement of Banana and Plantain* 2002). Oleh sebab itu menarik sekali membandingkan varietas liar Asia dengan kultivar Afrika untuk melihat pengaruh organisme patogen terhadap evolusi genom pisang.

Gangguan berbagai faktor baik biotik maupun abiotik, telah menimbulkan perjangkitan (*outbreak*) penyakit pada pisang. Penyempitan keragaman genetika inang dalam bentuk penanaman klon pada area yang luas membawa akibat yang semakin parah. Misal pemakaian klon Gros Michel yang terserang sigatoka hitam pada ratusan hektar tanah perkebunan di Amerika Latin atau serangan *banana bunchy top virus* (BBTV) terhadap perkebunan di Australia tahun 1920an (Dale 1987).

Dari segi infeksi penyakit, fenomena integrasi pararetrovirus pada genom tanaman inang pertama kali dikenal pada tanaman pisang. Virus ini menimbulkan *banana streak disease* (BSD), penyakit yang akhir-akhir ini mulai banyak dijumpai di berbagai negara di Asia, Afrika, dan Amerika Latin (Jones & Lockhart 1993). Pemahaman fenomena integrasi virus pada genom tanaman inang dapat membawa pada berbagai aplikasi penting, misal untuk memahami transformasi dalam gen target. Hal ini pula yang menyebabkan evolusi inang-patogen pada tingkat gen pada *Musa* semakin menarik untuk dipelajari.

Telah dilakukan tinjauan atas nilai ekonomi dan berbagai aspek fundamental genetika pisang yang tidak ditemukan pada tanaman model *Arabidopsis* dan padi. Berdasarkan berbagai pertimbangan di atas dan juga kenyataan telah dimulainya penelitian tingkat molekular pisang yang dikerjakan di berbagai Institut di dunia (Faure *et al.* 1993; Gonzales de Leon & Faure 1993; Kahl 2004; Khayat 2004; Pillay *et al.* 2004) para peneliti yang tergabung dalam *Programme for Musa Improvement* (PROMUSA) pada pertemuan di *National Science*

Foundation, Arlington, USA, Juli 2001, menyetujui terbentuknya *Global Musa Genomics Consortium* (GMGC). Konsorsium tersebut bertujuan untuk memfokuskan diri pada studi genom dan pemetaan kromosom pisang untuk membantu pemuliaan tanaman ini. Peneliti-peneliti yang tergabung dalam Konsorsium tersebut berasal dari 27 lembaga yang terdapat di 13 negara. Sedang *International Network for Improvement of Banana and Plantain* (INIBAP) berperan sebagai sekretariat dalam kegiatan tersebut.

Dalam usaha menjembatani data genomik pisang dan padi telah dilakukan pertemuan GMGC pada akhir tahun 2002. Dari hasil pertemuan tersebut tiga *BAC libraries* pisang telah tersedia bagi umum.

Dalam perkembangan selanjutnya, pada tahun 2003 didirikan pula *Musa Genome Resources Centre* di *Laboratorium Molecular Cytogenetics dan Cytometry* di *Institute Botany*, Cekoslovakia yang berperan untuk mendistribusikan data kepada anggota-anggota Konsorsium. Meskipun demikian, distribusi sumber daya genom ini tidak hanya terbatas pada anggota Konsorsium saja, tetapi juga bagi individu dan organisasi riset bukan anggota sepanjang memenuhi peraturan yang berlaku.

Pada pertemuan GMGC berikutnya di Penang, Malaysia, tanggal 10 Juli 2004, dilakukan peninjauan atas: status dan cara kerja Konsorsium, keadaan penelitian yang tersebar di berbagai Lembaga, identifikasi kerjasama serta prioritas pada penelitian yang akan datang. Berbagai kemajuan dilaporkan seperti pengurutan DNA pada pustaka *BAC* dari genom A yang telah dan sedang dikerjakan di *The Institute for Genomic Research* (TIGR) (Amerika), *Katholieke Universiteit Leuven* (KUL) (Belgia), *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria* (EMBRAPA) (Brazil) berturut-turut delapan *BAC* sedang dikerjakan; dua *BAC* telah selesai; dan lima *BAC* sedang dikerjakan. Sedang untuk genom B telah dilakukan pengurutan terhadap dua pustaka *BAC* hasil kerjasama *Centre de cooperation internationale en recherche agronomique pour le developpement* (CIRAD) (Perancis) dan Tsukuba (Jepang). Didiskusikan pula perlunya pertukaran informasi agar tidak terjadi tumpang tindih atau duplikasi penelitian. Dari *Institute of Experimental Botany* (IEB) (Republik Ceko) dilaporkan penggunaan *BAC* untuk hibridisasi *in situ* dalam pembuatan peta sitogenetik. Berkenaan dengan *transcriptome* dan pustaka *EST*, *EMBRAPA* telah melakukan 6000 bacaan (*read*) terhadap dua pustaka (dan dua pustaka lagi yang sedang dikerjakan). Hasil data yang diperoleh yang berasal dari jaringan bunga, kulit buah, akar, daun dengan perlakuan suhu tinggi dan rendah serta karangan bunga, diharapkan dapat memberikan informasi sekitar 2000 unigen. Pada masa yang akan datang pengurutan DNA dan analisis pustaka *BAC* akan diteruskan. Prioritas lain ditekankan pada perlunya mulai menghubungkan genom *Musa* dengan genom padi, serta pentingnya mengkaitkan hasil penelitian untuk pemuliaan tanaman pisang.

Proyek genom *Musa* ini diperkirakan akan memakan waktu lima tahun (2001-2006). Diharapkan pada akhir waktu tersebut berbagai informasi telah dapat diketahui misalnya: urutan DNA lengkap tanaman ini, identifikasi masing-masing gen serta

fungsi gen-gen tersebut, peta lengkap ekspresi gen pada keadaan normal maupun pada berbagai kondisi stres biotik maupun abiotik. Demikian juga dengan penanda genetika yang dapat dipakai untuk karakterisasi sifat-sifat penting. Saat ini informasi yang tersedia meliputi pustaka genomik *BAC*, pustaka *EST*, klon DNA berulang, serta penanda sitogenetik dan sitometri. Proyek Genom ini dapat diakses melalui <http://www.musaorganics.org>.

DAFTAR PUSTAKA

- Chikmawati T, Megia R, Widyastuti U, Farikhati IN. 1998. Kariotipe *Musa acuminata* "Mas Jambe" dan *M. Balbisiana* "Klutuk Wulung". *Hayati* 5:54-57.
- Dale JL. 1987. Banana Bunchy Top Virus: a continuing threat. Di dalam: Persley GJ, De Langhe EA (ed). *Banana and Plantain Breeding Strategies*. Burwood: Brown Prior Anderson Pty.Ltd. hlm 124-127.
- Faure S *et al.* 1993. A molecular marker-based linkage map of diploid bananas (*Musa acuminata*). *Theor Appl Genet* 87:517-526.
- Faure S *et al.* 1994. Maternal inheritance of chloroplast genome and paternal inheritance of mitochondrial genome in bananas (*Musa acuminata*). *Curr Genet* 25:265-269.
- Food Agriculture Organization. 2003. The world Banana Economy 1985-2002. http://www.fao.org/es/ESC/common/ecg/47147_en_WBE_1985-2002.pdf. [5 Jul 2005].
- Frison EA, Escalant JV, Sharrock S. 2004. The global *Musa* genomic consortium: A boost for banana improvement. Di dalam: Jain SM, Swennen R (ed). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology and Induced Mutations*. Enfield: Science Publishers Inc. hlm 341-350.
- Gawel N, Jarret RL. 1991a. Chloroplast DNA restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) in *Musa* species. *Theor Appl Genet* 81:783-786.
- Gawel N, Jarret RL. 1991b. Cytoplasmic genetic diversity in bananas and plantains. *Euphytica* 59:19-23.
- Gonzales de Leon D, Faure S. 1993. Genetic Mapping of the Banana Diploid Genome. Di dalam: *Proceedings of the workshop on Biotechnology Applications for Banana and Plantain Improvement*; San Jose, 27-31 Jan 1992. hlm 65-76.
- Horry JP. 1989. Chimiotaxonomie et organisation genetique dans le genre *Musa*. *Fruits* 44:455-474.
- [INIBAP] *International Network for the Improvement of Banana and Plantain*. 2002. A Strategy for the Global *Musa* Genomics Consortium. Report of a meeting held in Arlington, USA, 17-20 Jul 2001. Montpellier, hlm 1-43.
- Jarret RL, Litz RE. 1986a. Isozymes as genetic markers in bananas and plantains. *Euphytica* 35:539-549.
- Jarret RL, Litz RE. 1986b. Enzyme polymorphism in *Musa acuminata* Colla. *J Hered* 77:183-186.
- Jones DR, Lockhart BEL. 1993. *Musa* Disease Fact Sheet No.1. *Banana Streak Disease*. Montpellier: INIBAP.
- Kahl G. 2004. The banana genome in focus: a technical perspective. Di dalam: Jain SM, Swennen R (ed). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology and Induced Mutations*. Enfield: Science Publishers Inc. hlm 263-270.
- Khayat E. 2004. Discovery of functional genes in the *Musa* genome. Di dalam: Jain SM, Swennen R (ed). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology and Induced Mutations*. Enfield: Science Publishers Inc. hlm 321-330.
- Lagoda PJJ, Dambier D, Grapin A, Baurens FC, Lanaud C. 1997. Sequence tagged microsatellite site (STSM) markers in Musaceae. *Mol Ecol* 7:657-666.
- Megia R, Hadisunarso, Sulistyaningsih YC, Djuita NR. 2001. Isozyme polymorphisme for cultivar identification in Indonesian Banana. *Hayati* 8:81-85.
- Pillay M, Tenkouano A, Ude G, Ortiz R. 2004. Molecular characterization of genomes in *Musa* and its applications. Di dalam: Jain SM, Swennen R (ed). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology and Induced Mutations*. Enfield: Science Publishers Inc. hlm 271-286.
- Reuveni O, Israeli Y, Lahav E. 1996. Somaclonal Variation in Banana and Plantain (*Musa* species). Di dalam: Bajaj YPS (ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Somaclonal Variation in Crop Improvement II*. Berlin: Springer-Verlag. hlm 174-196.
- Simmonds NW. 1966. *Bananas*. New York: Longman Inc.
- Simmonds NW, Shepherd K. 1955. Taxonomy and origins of cultivated bananas. *J Linn Soc Bot* 55:302-312.
- Stover RH, Buddenhagen IW. 1986. Banana breeding: polyploidy, disease resistance and productivity. *Fruits* 41:176-191.